

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月15日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22790600

研究課題名（和文） 陰圧損傷が死をもたらすメカニズムを明らかにする

研究課題名（英文） Clarification of mechanisms of death caused by locally applied negative pressure

研究代表者

井濱 容子（IHAMA YOKO）

琉球大学・医学研究科・助教

研究者番号：80347137

研究成果の概要（和文）：局所への陰圧負荷に起因する死亡のメカニズムを明らかにするために、動物実験モデルを作成して研究を行った。まず、局所陰圧による筋組織の損傷は、挫滅症候群や筋虚血モデルに比較して、早期から著明となることが明らかとなった。陰圧損傷では、圧そのものが直接的に筋肉を損傷している可能性が示唆された。さらに、局所に負荷した陰圧が呼吸・循環に与える影響について検討したところ、上肢あるいは前胸部への陰圧負荷によって速やかに呼吸が停止し、死に至ることが明らかとなった。この結果は、実際例の死のメカニズムを説明する上で貴重な結果となった。これまでに局所への陰圧負荷によって生じる組織学的あるいは生理学的研究はなく、本研究は貴重な成果となった。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we used rat models to determine the morphological changes and investigate the mechanism underlying death caused by locally applied negative pressure. We found that morphological changes caused by locally applied negative pressure occurred in the early stages of the experiment, as opposed to that demonstrated by previous reports that used crush syndrome models and/or ischemic models. These results suggest that locally applied negative pressure directly causes muscle damage. Moreover, physiological studies revealed that negative pressure applied to the upper limb and chest brought about abrupt deaths, which possibly explain the mechanism underlying death caused by locally negative pressure. To the best of our knowledge, no experimental reports have been conducted on locally applied negative pressure. Therefore, this study presents valuable results.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：陰圧損傷，法医解剖，肉損傷，挫滅症候群，胸郭運動障害，呼吸障害，突然死

1. 研究開始当初の背景

法医学的診断では、直接的に死に繋がった死因を診断するだけでなく、死に至る経過やメカニズムを説明することが求められる。そのためには研究に基づくデータを必要とするが、特異な事例ではそういった適当な基礎研究・基礎データが不足することが多く、事例の解釈に難渋する。当教室では年間200件あまり（申請当時）の法医学解剖を行っており、数多くの剖検例の中には死因の判断ならびに死に至る機序について説明に苦慮する例にも遭遇する。

本研究は当施設で経験した事例（後述）から着想したものである。迅速に救出されたにもかかわらず、蘇生せずに死亡したが、その理由を明解に説明することができなかった。我々は、この症例に死をもたらしたメカニズムを明らかにするために、局所に陰圧を負荷する動物実験モデルを作成して、陰圧が生体に与える影響について検討したいと考えた。

【事例概要】30代の男性作業員がダム取水口（直径約20cm）に右上肢を吸い込まれ、速やかに救出されたにもかかわらず死亡した。右上肢は全体に紫赤色に変色し、著明に腫脹（右写真）。皮膚には多数の水疱が形成され、肩口にはパイプ表面の蛇腹状模様が印象されていた。皮膚を切開すると多量の血液・組織間液が滲出し、皮下・筋肉には厚層の出血があり筋挫滅を伴っていた。

この症例では、取水口に上肢を引き込まれた直後から意識を消失し、約10分後に救出された時点で心肺停止状態であった。上肢を吸引されたことで急激な経過を取って死亡した機序が不明であり、このメカニズムを解明するために本研究を企画・立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、局所的に作用した高度の陰圧が生体に引き起こす損傷を調べるとともに、死に至るメカニズムを科学的に解明することである。この研究によって、実際の症例（前述）の死の機序を明らかにすることができるとともに、これまでほとんど研究報告がない局所への陰圧が生体に与える影響について研究を行う。本研究は日頃から我々が目標としている「法医学解剖実務からの研究」「法医学実務に繋がる研究」が実践できる貴重な課題であると考えられる。

3. 研究の方法

局所への陰圧負荷モデルを作成した。真空ポンプ（ダイヤフラム型ドライ真空ポンプ DA-81S, ULVAC）に接続したアダプターをラットに装着して、局所に陰圧が負荷されるモデルを基本とした。実験動物には、体重と四肢

のバランスを考慮して9～10週齢のラット（350g前後）を使用した。全身麻酔下のラットの上肢あるいは下肢にアダプターを装着し、陰圧強度ならびに負荷時間を調整しながら実験を行った。なお、アダプターは装着するラットの上肢/下肢が完全に挿入されて、陰圧（-675mmHg）が保持されるよう適切な大きさのものを使用した。ポンプとアダプターの途中にはレギュレーター（真空用レギュレーターVR-2, アズワン）を接続して、陰圧を微調整できるようにした。

(1) 局所陰圧損傷について

局所への陰圧負荷が局所にとどの様な変化を与えるのかを明らかにするために、ラットの後肢に30, 60, 90, 120ならびに180分陰圧負荷群を作成し、肉眼的ならびに組織学的にcontrol群（180分麻酔のみ）と比較して検討した。計測ならびに組織学的検索には腓腹筋とヒラメ筋を用いた。負荷時間と血清生化学的データについても検討した。

(2) 呼吸・循環に与える影響について

局所への陰圧負荷が全身に与える影響について検討するために、呼吸・循環モニターを装着して、局所陰圧を負荷する部位（下肢・上肢・前胸部）と生理学的データの関係について比較検討した。

4. 研究成果

(1) 局所の陰圧損傷について

①肉眼所見：

損傷肢は負荷時間とともに腫大し、皮膚変色を認めた。30分程度から皮膚に水疱が形成され、次第に破裂して出血を生じた。筋肉の損傷は時間経過とともに進行し（図1）、出血ならびに浮腫を生じ、control群と比較すると著明な腫大が認められた（図2）。

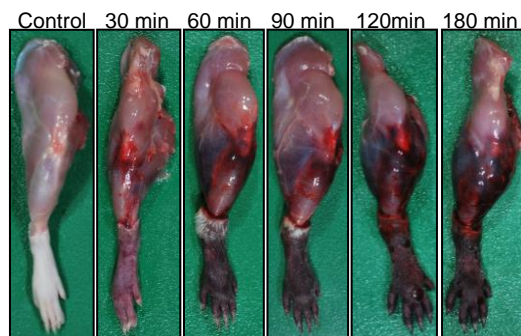


図1 時間経過に伴う筋肉損傷

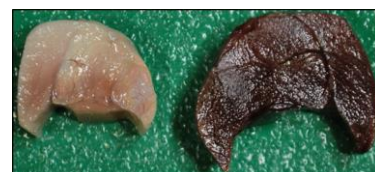


図2 下腿筋の中央部の横断
（左 control, 右 120分）

②下腿筋肉重量：

各群において下腿筋肉（腓腹筋+ヒラメ筋）を摘出して重量を比較したところ、30、60、90分群では時間経過とともに重量増加を認めましたが、90、120、180分では重量は概ね一定となり大きな増加は認められなかった（表1）。

表1 負荷時間毎の下腿筋重量

	Control	30分	60分	90分	120分	180分
損傷肢	23.2 ±0.7	24.7 ±0.7	26.3 ±1.9	30.3 ±0.7	29.2 ±2.6	30.0 ±2.7
非損傷肢	23.3 ±0.9	22.9 ±1.3	22.7 ±1.4	23.7 ±0.5	22.6 ±0.3	22.7 ±1.7
差	-0.1 ±0.8	1.8 ±1.1	3.6 ±2.5	6.7 ±0.9	6.6 ±2.6	7.2 ±1.3

③組織学的検査：

一視野あたりの筋細胞数、変性筋細胞の割合について検討したところ、負荷時間の増加とともに変性筋細胞が著明に増加した（図3）。

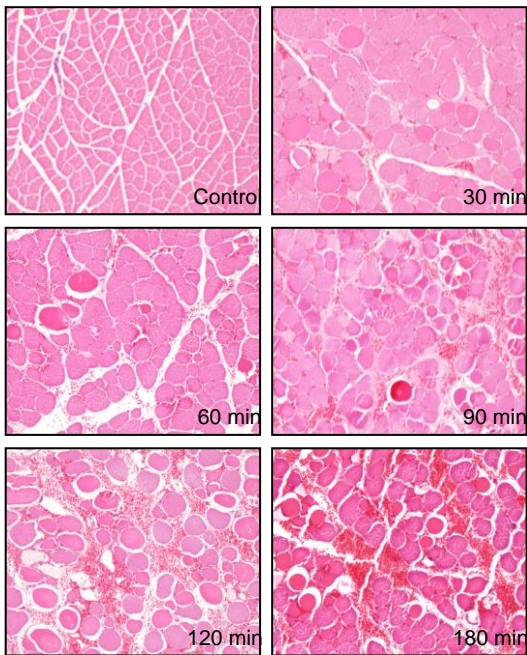


図3 負荷時間ごとの筋細胞変性（HE, ×100）

また、下腿筋肉の部位による筋細胞変性を評価するために筋肉横断面を outer, middle, inner に分けて（図4）、いずれの部位においても経過時間とともに筋細胞の数が減少した（図5）。

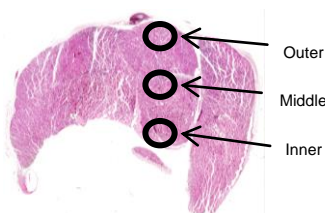


図4 下腿筋の横断面（HE, ×12.5）

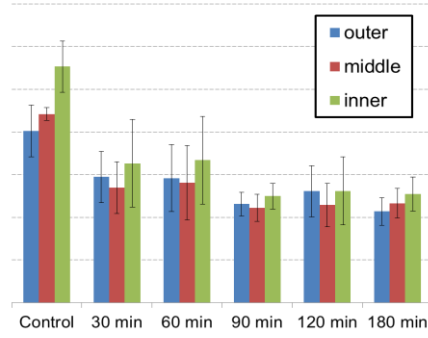


図5 1視野中の筋細胞の細胞数の推移

さらに筋組織変性の出現率について、部位別に比較検討したところ inner において最も変性細胞の比率が高い結果であった（図6）。

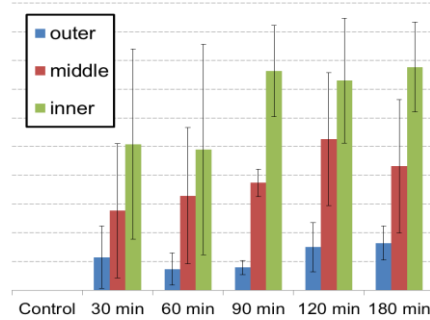


図6 部位別の変性細胞の比率

筋細胞の変性をより詳細かつ容易に捉えるために Masson Trichrom 染色を行ったところ、inner における変性細胞の出現率がより直視的に把握可能となった（図7）。

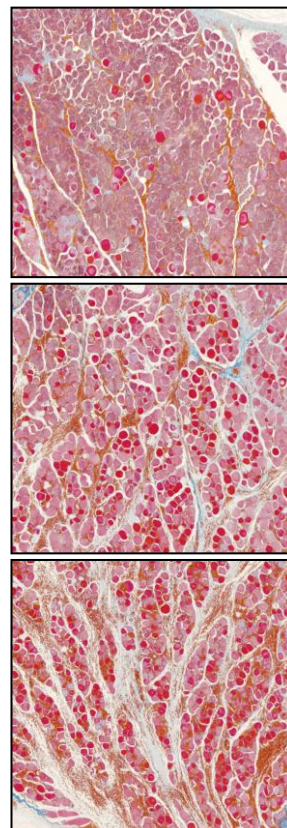


図7 Masson Trichrom 染色（90分負荷群）（上 outer, 中 middle, 下 inner）

さらに組織中の筋逸脱酵素（ミオグロビン）ならびにサイトカイン（TNF- α ，IL-6）について免疫組織化学的に評価したところ，IL-6 は 30 分負荷群において陽性細胞が認められた（図 8）．一方，TNF- α は 180 分群においても陽性細胞は認められなかった．ミオグロビンは全ての群において，間質に陽性反応が認められた（図 9）．

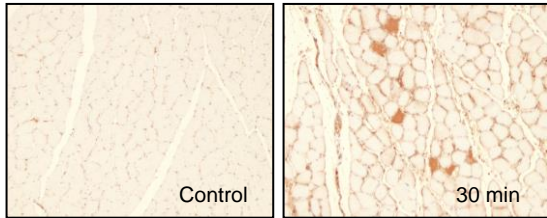


図 8 IL-6 染色 (×100)

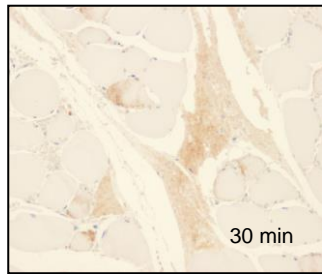


図 9 ミオグロビン染色 (×200)

④有効循環血液量：

腹部大動脈からの採血量によって有効循環血液量を評価したところ，陰圧負荷時間とともに採血量は減少し，180 分群では対象群の約 50%となった．

⑤生化学的検査：

血清中の K ならびに CK は 120，180 分群で有意に上昇した（表 2）が，Ca，AST，ALT，LDH，ミオグロビンは有意差を認めなかった．

表 2 血清中 K ならびに CK 濃度

	Control	30 分	60 分	90 分	120 分	180 分
K	4.1	4.1	4.5	4.9	5.9	5.6
(mEq/L)	±0.3	±0.3	±0.2	±0.4	±1.2	±0.5
CK	174	479	839	696	1716	1689
(IU/L)	±71	±213	±470	±165	±929	±499

⑥免疫学的検査：

各群における血清中のサイトカイン（TNF- α ，IL-6）を測定したところ上昇は認められなかった．

以上の結果から，陰圧損傷の本態は筋肉損傷であり，その病態は挫滅症候群に類似すると推測される．一方，本研究で行った陰圧損傷では，挫滅症候群に関する実験結果に比較

すると受傷後早期から変性筋細胞が確認された．この結果は，局所に対する陰圧負荷が挫滅症候群とは異なった機序で組織損傷を引き起こしている可能性が示唆される．本研究によって，挫滅や虚血とは異なる，直接陰圧によってもたらされる新しい筋損傷のタイプを明らかにした [Leg Medicine 2012]．

(2) 呼吸・循環に与える影響について

ラットの片側下肢，上肢ならびに前胸部に局所陰圧を負荷した（図 10）．

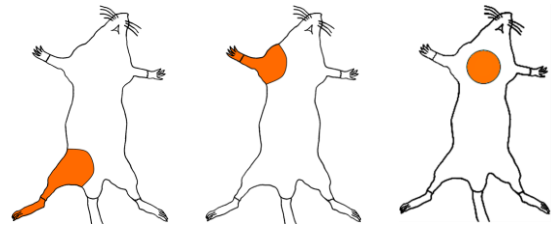


図 10 陰圧負荷部（下肢・上肢・前胸部）

下肢への陰圧負荷では 180 分の負荷でも死亡例はなかった（図 11-上）が，片側上肢ならびに前胸部への陰圧負荷では 10 秒程度で急激に血圧が低下して呼吸停止に至り死亡した（図 11-中，下）．

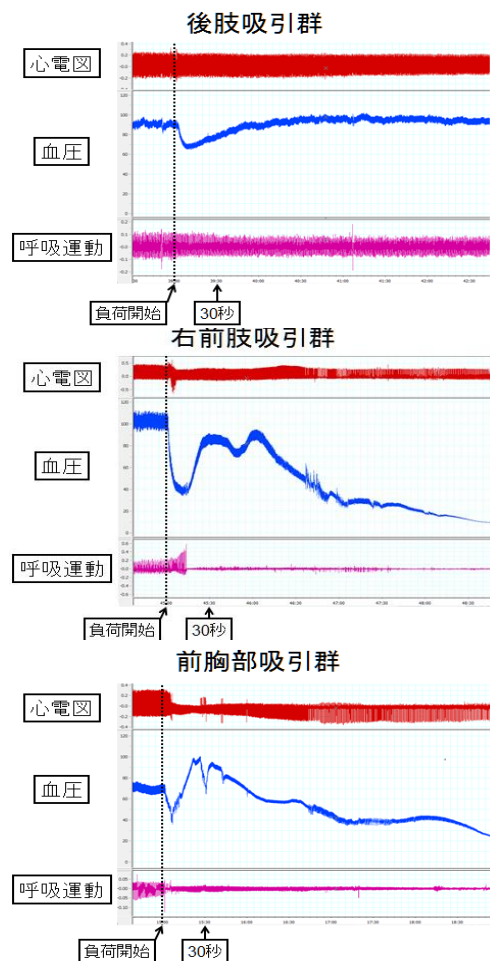


図 11 陰圧負荷部別の心電図・血圧・呼吸運動

生理学的には、①負荷部位の圧力が 1/10 大気圧になった時点で血圧が急速に低下し、②血圧低下が生じてから 10 数秒以内に突然の呼吸停止が起こり、③呼吸停止後に血圧は一旦上昇するが次第に低下して心停止に至る、という経過が全てのラットにおいて認められた。この経過は、自験例において認められた経過と非常に類似したものであった。

以上の結果から、下肢に陰圧負荷した場合には死には至らず、上肢ならびに前胸部に陰圧を負荷した場合には速やかに死亡しており、局所陰圧による死には胸郭運動障害が関与している可能性が高いと考えられた[第 62 回日本法医学会学術九州地方集会]。

一方で、胸部周囲への陰圧負荷によって脳虚血や心臓周囲循環に変化が生じている可能性は否定できず、今後さらなる研究を行う予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Kenji Ninomiya, Yoko Ihama, Maki Fukasawa, Takumi Nagai, Chiaki Fuke, Tetsuji Miyazaki: Morphologic investigation of injury caused by locally applied negative pressure in a rat model. Leg Medicine 2012(14)21-26
査読有

[学会発表] (計 3 件)

1. 二宮賢司, 井濱容子, 深沢真希, 永井匠, 福家千昭, 宮崎哲次「前肢及び前胸部局所陰圧損傷(吸引損傷)モデルにおける病態生理の実験的研究」第 62 回日本法医学会学術九州地方集会, 2012. 10. 12-13 (熊本)
2. Kenji Ninomiya, Yoko Ihama, Maki Fukasawa, Takumi Nagai, Chiaki Fuke, Tetsuji Miyazaki. Morphologic investigation of injury caused by locally applied negative pressure in a rat model. ISALM 2011. 10. 25-28 (Frankfurt, Germany)
3. 二宮賢司, 井濱容子, 野口正道, 福家千昭, 宮崎哲次「局所陰圧損傷における病態生理の実験的研究」第 94 次日本法医学会学術全国集会, 2010. 6. 23-25 (東京)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井濱 容子 (IHAMA YOKO)
琉球大学・医学研究科・助教
研究者番号: 80347137

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし